

# Konferencja naukowo - szkoleniowa AUTOIMMUNIZACJA W ENDOKRYNOLOGII - NASTĘPSTWA KLINICZNE

26 - 27 listopada 2004 r.

Poznań

Szanowni Państwo

W dniach 26-27 listopada 2004 roku w Teatrze Wielkim w Poznaniu będziemy obchodzić uroczysty jubileusz 80-lecia urodzin nestora polskiej Endokrynologii, Profesora Jerzego Kosowicza. Obchody te będą połączone z konferencją naukowo-szkoleniową

*„Autoimmunizacja w endokrynologii - następstwa kliniczne”*

Uroczystość jubileuszowa oraz konferencja odbywają się pod patronatem:

REKTORA

Akademii Medycznej im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu  
Prof. dr hab. med. Grzegorza H. Bręborowicza

MARSZAŁKA WOJEWÓDZTWA WIELKOPOLSKIEGO

Pana Stefana Mikołajczaka

WOJEWODY WIELKOPOLSKIEGO

Pana Andrzeja Nowakowskiego

## PROGRAM

### Piątek - 26.11.2004

- 17<sup>00</sup> - uroczyste otwarcie Konferencji - prof. J. Sowiński
- 17<sup>30</sup> - przemówienia zaproszonych gości
- 19<sup>00</sup> - przerwa
- 19<sup>30</sup> - Koncert Galowy
- 21<sup>00</sup> - Bankiet

### Sobota - 26.11.2004

- 9<sup>00</sup> - 9<sup>10</sup> - otwarcie - Prof. Jerzy Kosowicz  
*Prowadzenie: Prof. dr hab. med. J. Kosowicz, Prof. dr hab. med. J. Sowiński*

#### WYKŁADY ZAPROSZONYCH GOŚCI

- 9<sup>10</sup> - 9<sup>40</sup> - wykład - Prof. Marek Pawlikowski  
Przeciwpalne i immunomodulacyjne działanie analogów somatostatyny.
- 9<sup>40</sup> - 10<sup>10</sup> - wykład - Prof. Barbara Czarnocka  
Autoimmunizacja w tarczycy: peroksydaza tarczycowa - wspólny autoantygen w niedoczynności i nadczynności tarczycy oraz w eutyreozie.

- 10<sup>10</sup> - 10<sup>40</sup> - wykład - Prof. Janusz Nauman**  
Etiopatogeneza choroby Gravesa-Basedowa wczoraj i obecnie.
- 10<sup>40</sup> - 11<sup>10</sup> - wykład - Prof. Jan Żeromski**  
Obecność antygeny CD56 (NCAM) w układzie nerwowym, odpornościowym i gruczołach dokrewnych - przypadkowa zbieżność?
- 11<sup>10</sup> - 11<sup>40</sup> - wykład - Dr med. Jadwiga Furmaniak**  
Analiza interakcji pomiędzy autoprzeciwciałami i antygenami na poziomie molekularnym.
- 11<sup>40</sup> - 12<sup>10</sup> - przerwa (kawa i poczęstunek)**

### SESJA PLAKATOWA

*Prowadzenie: Prof. dr hab. B. Czarnocka, Dr med. J. Furmaniak*

- 12<sup>10</sup> - 12<sup>30</sup> - Prof. Beata Kos-Kudła** - Guzy neuroendokrynne osi żołądkowo - jelitowo - trzustkowej - postępy w diagnostyce i leczeniu. (wykład sponsorowany)
- 12<sup>30</sup> - 14<sup>00</sup> - sesja plakatowa (prezentacje i dyskusja)**
- A. Noczyńska, R. Wąsikowa** - Cukrzyca typu 1 i towarzyszące choroby autoimmunologiczne u dzieci i młodzieży.
  - T. Żak, A. Noczyńska, R. Wąsikowa, A. Golenko, L. Kostecka** - Przewlekłe autoimmunologiczne zapalenie tarczycy u dzieci i młodzieży na Dolnym Śląsku w latach 1999-2004.
  - A.A. Kasperlik-Załuska, B. Czarnocka, S. Bensing, P.A. Crock, A.L. Hulting** - Częstość występowania zaburzeń autoimmunizacyjnych w idiopatycznej wtórnej niewydolności kory nadnerczy.
  - W. Zgliczyński, P. Zdunowski** - Trudności w rozpoznawaniu i leczeniu limfocytarnego zapalenia podwzgórza i przysadki.
  - T. Stęchły, D. Kula, K. Steinhof, B. Jurecka-Lubieniecka** - Polimorfizm A(-308) G genu TNF i A(49)G genu CTL-4 w chorobie Hashimoto.
  - G. Adler, U. Piotrowska** - Funkcja mostków dwusiarczkowych w receptorze TSH w wiązaniu autoprzeciwciał.
  - I. Beń-Skowronek, T. Jaklińska, L. Szewczyk, K. Drabko, J. Kowalczyk** - Autoimmunologiczna choroba tarczycy u 16-letniego chłopca jako skutek allogenicznego przeszczepu szpiku.
  - I. Beń-Skowronek, M. Wójtowicz, K. Mardarowicz, A. Wojtkowska, M. Pietroń-Grzyb, J. Budzyńska, R. Piekarski, L. Szewczyk** - Choroby z autoimmunizacji u krewnych dzieci chorych na cukrzycę typu I.
  - M. Gryczyńska, M. Bączyk, M. Pisarek, K. Ziemnicka, P. Guć, J. Sowiński** - Autoimmunizacja a wyniki leczenia ablacyjnego wola guzkowego olbrzymiego z użyciem 131-I.
  - P. Guć, J. Kosowicz, K. Ziemnicka, M. Bączyk, M. Gryczyńska, M. Pisarek, A. Czarnywojtek, J. Sowiński** - Występowanie autoprzeciwciał przysadkowych w chorobie Gravesa-Basedowa.
  - W. Stankiewicz, P. Fichna, E. Korman, B. Skowrońska** - Autoprzeciwciała u nowo diagnozowanych dzieci z cukrzycą typu 1 – wpływ płci i wieku.
  - K. Michałek, R. Waśko, J. Pacholska, A. Obrepalska-Sęplowska, A. Goździcka-Józefiak, J. Sowiński** - Polimorfizm promotora IGF-I w wybranych przypadkach chorób autoimmunologicznych tarczycy.
  - H. Komarowska, R. Waśko, K. Iwanik, H. Kędzia, A. Warenik-Szymankiewicz, P. Majewski, J. Sowiński** - Immunohistochemiczna ocena ekspresji ghreliny w jajnikach policystycznych.
- 14<sup>00</sup> - 14<sup>15</sup> - zakończenie Konferencji**

## STRESZCZENIA

**Cukrzyca typu 1 i towarzyszące choroby autoimmunologiczne u dzieci i młodzieży**

Noczyńska A., Wąsikowa R.

*Katedra i Klinika Endokrynologii Wieku Rozwojowego, AM we Wrocławiu**Kierownik Katedry i Kliniki: Dr hab. n. med. Anna Noczyńska*

► **Celem** badań było ustalenie czy występowanie dodatkowych chorób autoimmunologicznych u dzieci z cukrzycą typu 1 jest częstsze niż w populacji.

**Pacjenci i metody:** Analizę przeprowadzono w 2003 roku. Badania obejmowały 440 dzieci i młodzieży z cukrzycą typu 1, w wieku 4 – 18 lat (średnio 6,3 lat), 256 dziewcząt, 184 chłopców z cukrzycą trwającą od 0 – 12,4 lat.

**Wyniki:** Dysfunkcję tarczycy stwierdzono u 29 pacjentów (6,4%). Chorobę Hashimoto u 24 dzieci (5,47% versus 2,0% w populacji), u 1 chłopca i 23 dziewcząt, u 5 dziewcząt chorobę Gravesa-Basedowa (1,14%). Duże dziewczynki są po chirurgii tarczycy. U 2 dziewcząt zapalenie tarczycy typu Hashimoto było rozpoznane przed wystąpieniem cukrzycy typu 1, u pozostałych kilka miesięcy lub lat po rozpoznaniu cukrzycy typu 1. Celiakię stwierdzono u 24 dzieci (5,02% versus 0,1 – 0,29 w populacji). U dwojga dzieci celiakię rozpoznano w pierwszym roku życia, przed wystąpieniem cukrzycy, u pozostałych po rozpoznaniu cukrzycy. Vitiligo stwierdzono u 10 pacjentów, 2 dziewcząt i 8 chłopców – erythema anulare. Ogólnie stwierdzono dodatkową chorobę autoimmunologiczną u 65 z 440 dzieci z cukrzycą typu 1 (14,42%), najczęściej występowały choroby tarczycy.

**Wnioski:**

- 1) Częstość występowania dodatkowej choroby autoimmunologicznej była u naszych dzieci z cukrzycą typu 1 wyższa niż w populacji.
- 2) Najczęściej występowały choroby autoimmunologiczne tarczycy.
- 3) U niektórych dzieci cukrzyca występowała jako druga choroba.
- 4) Istotne jest powtarzanie diagnostyki w kierunku innych chorób autoimmunologicznych u dzieci z cukrzycą typu 1.

**The incidence of additional autoimmune diseases in children with type 1 diabetes**

Noczyńska A., Wąsikowa R.

*Department of Endocrinology for Children and Adolescents,**University of Medicine, Wrocław, Poland**Head of Clinic: Dr hab. n. med. Anna Noczyńska*

► **Aim of the study** was to ascertain if the incidence of additional autoimmune diseases is in children with type 1 diabetes higher than in the population.

**Patients and methods:** The analysis was performed in the year 2003. The examinations included 440 children and adolescents with type 1 diabetes, aged 4 – 18 years (mean 6.3 years), 256 girls, 184 boys, with a diabetes duration 0 – 12.4 years.

**Results:** A dysfunction of the thyroid gland was found in 29 patients (6.4%) Hashimoto Thyroiditis in 24 children (5.47% versus 2.0% in the population) in 1 boy and 23 girls, in 5 girls Morbus Graves Basedow (1.14%). Two girls were after surgery of the thyroid. In two girls Hashimoto thyroiditis was diagnosed before diabetes type 1, in the remaining some months or years after the diagnosis of diabetes type 1. Coeliac disease was ascertained in 24 children (5.02% versus 0.1 – 0.29 in the population). In two children coeliac disease was diagnosed in the first year or life, before the diagnosis of diabetes, in the remaining during the duration of diabetes type 1. Vitiligo was present in 10 patients, 2 girls and 8 boys in two brothers. Morbus Addison in 1 boy, in 1 girl Myasthenia gravis and 1 girl erythema anulare. In 65 children with diabetes type 1 (14.38%) an additional autoimmune disease was present. The most often was a dysfunction of the thyroid.

**Conclusion:**

- 1) The incidence of a second autoimmune disease was in our children with type 1 diabetes higher than in the population.
- 2) An autoimmune disease of the thyroid was the most often second diagnosis.
- 3) In some children was diabetes type 1 the second diagnosis.
- 4) Important is repeated diagnostic for additional autoimmune diseases in children with type 1 diabetes.

**Przewlekłe autoimmunologiczne zapalenie tarczycy u dzieci i młodzieży na Dolnym Śląsku w latach 1999-2004**Żak T.<sup>1</sup>, Noczyńska A.<sup>1</sup>, Wąsikowa R.<sup>2</sup>, Golenko A.<sup>1</sup>, Kostecka L.<sup>2</sup>*<sup>1</sup>Katedra i Klinika Endokrynologii i Diabetologii Wieku Rozwojowego AM we Wrocławiu**<sup>2</sup>Akademycki Szpital Kliniczny we Wrocławiu**Kierownik Kliniki: Dr hab. n. med. Anna Noczyńska*

► Przewlekłe zapalenie tarczycy, zwane również przewlekłym limfocytowym bądź autoimmunologicznym zapaleniem tarczycy, zostało opisane po raz pierwszy przez Hashimoto w 1912 roku. Choroba Hashimoto jest najczęściej występującym typem zapalenia tarczycy i najczęstszą przyczyną hipotyreozy nabytej. Przewlekłe limfocytarne zapalenie tarczycy może występować w każdym wieku, u ok. 1% populacji przebiega z jawną klinicznie niedoczynnością tarczycy. Obecnie wiadomo, że u ponad 90% pacjentów z chorobą Hashimoto stwierdzono wysokie miana przeciwciał anty-TPO i aTg. U chorych z tym typem zapalenia występują również przeciwciała blokujące jak i pobudzające receptor TSH. Uważa się, że za zniszczenie komórek pęcherzykowych tarczycy i rozwój objawów klinicznych choroby odpowiadają nie tyle wysokie stężenia przeciwciał, co raczej obecność cytotoksycznych limfocytów T oraz makrofagów.

Czynniki predysponujące do rozwoju przewlekłego limfocytarnego zapalenia tarczycy mają charakter

genetyczny i środowiskowy. Wśród czynników środowiskowych wymienia się wysokie spożycie jodu, infekcje wirusowe oraz leki. Liczni autorzy podają wzrost częstości zachorowania na autoimmunologiczne choroby tarczycy po wprowadzeniu profilaktyki jodowej na terenach endemicznych. W Polsce obowiązkowa profilaktyka jodowa została wprowadzona ponownie w 1997r.

Celem badań była ocena częstości występowania choroby Hashimoto oraz jej przebieg u dzieci i młodzieży na terenie Dolnego Śląska w latach 1999-2004 na materiale Poradni Endokrynologicznej Akademickiego Szpitala Klinicznego w powiązaniu z wiekiem, płcią, występowaniem chorób tarczycy w rodzinie, objawami klinicznymi, badaniami hormonalnymi, mianem przeciwciał przeciw-tarczycowych, obrazem ultrasonograficznym, wynikami BAC gruczołu tarczowego, oraz współwystępowaniem innych chorób nie tylko o podłożu autoimmunologicznym. Oceniono liczbę rozpoznań choroby Hashimoto w poszczególnych latach. Badaniami objęto 100 dzieci (10 chłopców i 90 dziewcząt). Średni wiek badanej grupy: 14,9 lat, SD±1,9. Średni wiek zachorowania: 12,3 lat, SD±2,2. Obciążenie dziedziczne chorobami tarczycy stwierdzono u 15% badanej grupy. Stan tyreometaboliczny : w chwili rozpoznania: u 26 dzieci stwierdzono podwyższone stężenia TSH bez jawnej klinicznie hipotyreozy, u 11 objawy nadczynności tarczycy, u 63 – eutyreozę. Średnie stężenia: TSH w chwili rozpoznania 15,18; SD±41,11; fT4±1,78; SD±2,89; fT3: 4,14; SD±2,5; aTPO 622,15; SD±579,53. W chwili obecnej średnie stężenie TSH : 1,88; SD±1,26; fT4: 1,66; SD±1,58; fT3: 3,63; SD±1,43; aTPO : 517,41; SD±488,21. Wysokie miano przeciwciał aTPO występowało u 65%. Obraz ultrasonograficzny charakterystyczny dla choroby Hashimoto stwierdzono u 60% dzieci. BAC tarczycy wykonywano w przypadkach trudnych diagnostycznie (u 35% dzieci) u wszystkich uzyskując potwierdzenie rozpoznania. Choroby współistniejące dotyczyły 33% dzieci i były to: cukrzyca typu 1 (u 14%), PCOS u 5%, zespół Turnera, zespół Downa, objawy przedwczesnego dojrzewania płciowego odpowiednio u 3%.

#### Podsumowanie:

- 1) Chorobę Hashimoto najczęściej stwierdzano w okresie dojrzewania płciowego w przeważającej liczbie u dziewcząt.
- 2) Obciążenie dziedziczne chorobami tarczycy dotyczyło 15% dzieci.
- 3) Większość dzieci była w eutyrozii, u żadnego dziecka nie występowała jawna klinicznie hipotyreoza.
- 4) U 65% stwierdzono wysokie miano przeciwciał przeciw tyreoperoksydazie.
- 5) U 35% dzieci z niskim mianem przeciwciał BAC potwierdziła rozpoznanie.

### Chronic autoimmune thyroid disease in children and adolescents in Lower Silesia in the years 1999-2004

Żak T.<sup>1</sup>, Noczyńska A.<sup>1</sup>, Wąsikowa R.<sup>2</sup>, Golenko A.<sup>1</sup>, Kostecka L.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Chair and Clinic of Endocrinology and Diabetology in the Developmental Age, University of Medicine, Wrocław, Poland

<sup>2</sup>Hospital of University of Medicine, Wrocław, Poland

Head of Clinic: Dr hab. n med. Anna Noczyńska

► Chronic inflammation of the thyroid, called also chronic lymphocytic or autoimmune inflammation of the thyroid, was first described by Hashimoto in the year 1912. Hashimoto disease is the most often observed kind of inflammation of the thyroid gland and the most frequent cause acquired hypothyroidism. The chronic lymphocytic inflammation of the thyroid is observed in patients in different ages, in around 1% of the population with overt clinical hypothyroidism. Factors which predispose to the development of the chronic lymphocytic inflammation of the thyroid were genetic and environmental. Among the environmental factors mentioned are high iodine consumption, viral infections and drugs. Many authors has observed an increase of the incidence of autoimmune diseases of the thyroid after introduction of the iodine prophylaxis on the endemic regions. In Poland iodine prophylaxis was introduced secondly in 1997. Aim of the study was the appreciation of the incidence of Hashimoto disease and the course of the disease in children and adolescents in Lower Silesia in the year 1999-2004 on the basis of the outpatient. Endocrinological Clinic of the University Hospital. Analyzed was age, gender, incidence of thyroid diseases in the family, clinical symptoms, hormonal examinations, level of thyroid antibodies, ultrasonography, BAC results of the thyroid and the incidence of Hashimoto disease in the particular years. The examinations included 100 children, 10 boys and 90 girls. The mean age of the examined group was 14,9 years (SD±1,9). Mean age at diagnosis – 12,3 years (SD±2,2). Thyroid diseases in the family was observed in 15% in the examine group. The thyrometabolic situation at diagnosis: in 26 children shown was an increased level of TSH without overt hypothyroidism, in 11 children hyperthyroidism, in 63 euthyroidism. The mean level of TSH at diagnosis: 15.18 uIU/ml (SD±41,11), fT4 – 1.78ng/dl (SD±2,89), fT3 – 4.14 pg/ml (SD±2,5), aTPO – 622.15 IU/ml (SD±579,53). Actually the mean levels of TSH – 1.88 uIU/ml (SD±1,26), fT4 – 1.66 ng/dl (SD±1,58), fT3 – 3.63 pg/ml (SD±1,43), aTPO – 517.41 IU/ml (SD±488,21). An increased level of aTPO antibodies was observed in 65% of children. Ultrasonography was characteristic for the Hashimoto disease in 60% patients. Fine needle biopsy was performed in diagnostic difficult cases (in 35% children). In all the children ascertained was the diagnosis of Hashimoto disease. Additional diseases were observed in 33% of children; diabetes t.1 in 14%, PCOS in 5%, Turner syndrome, Down syndrome, precocious puberty adequately in 3%.

#### Summary:

- 1) Hashimoto disease was most frequent diagnosed in the puberty in majority in girls.
- 2) Thyroid diseases in the family was present in 15% of the children.
- 3) The majority of children was in euthyroidism, in none of the children present was overt clinical hypothyroidism.
- 4) In 65% of the children shown was an increased level of thyroperoxydase antibodies.
- 5) In 35% children with a low antibodies level the fine needle biopsy ascertained the diagnosis.

## Częstość występowania zaburzeń autoimmunizacyjnych w idiopatycznej wtórnej niewydolności kory nadnerczy

Kasperlik-Załuska A.A.<sup>1</sup>, Czarnocka B.<sup>2</sup>, Bensing S.<sup>3</sup>, Crock P.A.<sup>4</sup>, Hulting A.L.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Klinika Endokrynologii i <sup>2</sup>Zakład Biochemii, Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, Warszawa, Polska

<sup>3</sup>Karolinska Institutet, Karolinska Hospital, Department of Molecular Medicine, Sztokholm, Szwecja

<sup>4</sup>John Hunter Children's Hospital, University of Newcastle, Department of Pediatric Endocrinology, Newcastle, Australia

► W chorobie Addisona, w 63-83% przypadków występują różnego rodzaju zaburzenia autoimmunizacyjne, natomiast nie jest znana częstość tego typu zmian we wtórnej niewydolności kory nadnerczy. Praca nasza miała na celu ocenę częstości występowania zaburzeń autoimmunizacyjnych w grupie 212 pacjentów (193 kobiety i 19 mężczyzn, w wieku od 17 do 78 lat) z idiopatyczną wtórną niewydolnością kory nadnerczy, obserwowanych w Klinice Endokrynologii CMKP. Ponieważ w idiopatycznej postaci choroby Addisona najczęściej spotyka się współistnienie zaburzeń autoimmunizacyjnych dotyczących tarczycy przyjęto za zasadę oznaczanie miana przeciwciał tarczycowych jako markera procesu autoimmunizacyjnego.

**Metody:** Podstawą rozpoznania wtórnej niewydolności kory nadnerczy były typowe wyniki rutynowych badań hormonalnych (niskie poziomy kortyzolu i ACTH, obniżone wartości 17-OHCS, wzrastające po zastosowaniu syntetycznej kortykotropiny). W ocenie klinicznej poszukiwano zmian o podłożu autoimmunizacyjnym, wykonano też badania hormonalne sprawdzające czynność przysadki, tarczycy i gonad. W badaniach immunologicznych oznaczono u 202 osób miano przeciwciał tarczycowych, antyperoksydazowych (aTPO), antytyroglobulinowych (aTg) i antymikrosomalnych (aMic); w 65 przypadkach przeprowadzono badania w kierunku obecności przeciwciał przysadkowych.

**Wyniki:** Obecność zaburzeń autoimmunizacyjnych wykryto u 145 pacjentów; do najczęstszych należała niedoczynność tarczycy, nadczynność tarczycy, przedwczesne wygaśnięcie funkcji jajników i bielactwo. Obecność przeciwciał tarczycowych stwierdzono u 128 osób, najczęściej aTPO (w tym u 37 pacjentów jako jedyny objaw autoimmunizacji). Przeciwciała antyprzysadkowe wykryto u 22 pacjentów (u czterech jako jedyną zmianę autoimmunizacyjną). Podsumowując, współistnienie chorób autoimmunizacyjnych i/albo przeciwciał tarczycowych bądź przysadkowych wykryto u 145 pacjentów (jest to 72% osób, u których oznaczono przeciwciała tarczycowe i 68% całej liczby badanych pacjentów).

**Wniosek:** Wyniki przeprowadzonych badań wskazują, że autoimmunizacja stanowi najczęstszą przyczynę idiopatycznej wtórnej niewydolności kory nadnerczy.

*Praca sponsorowana: Grant CMKP 501-2-2-07-30/02, Ake Wiberg Fund, Novo Nordisk Foundation, Karolinska Institutet, Medical Research Council of Australia, Project Grant 100952.*

## Frequency of autoimmune disorders in idiopathic secondary adrenal insufficiency

Kasperlik-Załuska A.A.<sup>1</sup>, Czarnocka B.<sup>2</sup>, Bensing S.<sup>3</sup>, Crock P.A.<sup>4</sup>, Hulting A.L.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Endocrinology and <sup>2</sup>Department of Biochemistry, Centre for Postgraduate Medical Education, Warsaw, Poland

<sup>3</sup>Department of Molecular Medicine, Karolinska Institutet, Karolinska Hospital, Stockholm, Sweden

<sup>4</sup>Department of Pediatric Endocrinology, John Hunter Children's Hospital, University of Newcastle, New South Wales, Australia

► **Background:** Various autoimmune disorders are present in 63-83% of patients with Addison's disease, while in the secondary adrenal insufficiency this incidence is still uncertain.

**Objectives:** Our work aimed at evaluating the incidence of autoimmune disorders in a group of 212 patients (193 women and 19 men, aged 17-78 years) with idiopathic secondary adrenal insufficiency observed at the Department of Endocrinology in Warsaw. As thyroid autoimmunity is the most frequent disorder associated with idiopathic Addison's disease we decided to search for thyroid autoantibodies, as markers of autoimmune process in our group of patients.

**Methods:** Secondary adrenal insufficiency was confirmed by routine endocrine studies (cortisol, ACTH, 17-OHCS). In clinical analysis we searched for autoimmune diseases and we performed hormonal assays evaluating the pituitary, thyroid and gonadal function. The immunological studies: serum thyroid antiperoxidase (aTPO), antityroglobulin and antimicrosomal autoantibodies were determined in 202 patients; a search for pituitary autoantibodies was carried out in 65 patients.

**Results:** Autoimmune disorders were found in 145 patients. The most frequent associated autoimmune diseases were hypothyroidism, hyperthyroidism, premature ovarian failure and vitiligo. The thyroid autoantibodies were detected in 128 patients, the aTPO were the most frequent ones. Autoantibodies to pituitary autoantigens were found in 22 patients. In 37 patients the thyroid autoantibodies and in four other patients the pituitary autoantibodies were sole marker of an autoimmune process.

In summary, coexistence of secondary adrenal insufficiency of unknown origin with some autoimmune disorders and/or presence of thyroid and pituitary autoantibodies were detected in 137 patients (72% of the patients studied for the thyroid autoantibodies, and 68% of the whole group under study).

**Conclusion:** Autoimmunity seems to be the most frequent cause of idiopathic secondary adrenal insufficiency.

*Grantsupport of the paper: 501-2-2-07-30/02 CMKP grant; Ake Wiberg Fund; Novo Nordisk Foundation; Karolinska Institutet and Medical Research Council of Australia Project Grant 100952.*

## Trudności w rozpoznawaniu i leczeniu limfocytarnego zapalenia podwzgórza i przysadki

Zgliczyński W., Zdunowski P.

Klinika Endokrynologii CMKP, Warszawa

► Limfocytarne zapalenie przysadki jest rzadkim schorzeniem naciekowo – zapalnym o podłożu immunologicznym, prowadzącym do uszkodzenia gruczołu przysadki. Do niedawna rozpoznanie choroby ustalić można było jedynie w oparciu o badania histopatologiczne (zwykle pośmiertne). Wprowadzenie do diagnostyki chorób układu podwzgorzowo – przysadkowego obrazowania za pomocą rezonansu magnetycznego (MR) przyczyniło się do ujawnienia zmian zapalnych obejmujących nie tylko przysadkę, ale i jej szypułkę oraz podwzgórze. Celem pracy była próba ustalenia kryteriów rozpoznania i leczenia limfocytarnego zapalenia podwzgorza i przysadki. W oparciu o materiał obejmujący 10 chorych – 9 kobiet i jednego mężczyznę, w wieku od 25 do 54 lat (średnio 39,3) poddanych obserwacji przez okres od 2 do 7 lat (średnio 4,5) wykazano, że limfocytarne zapalenie podwzgorza i przysadki najczęściej występuje u kobiet, może być związane z ciążą i okresem poporodowym, często towarzyszy innym chorobom o podłożu autoimmunologicznym. Klinicznie najczęściej objawia się: wtórną niedoczynnością nadnerczy i gonad, niedoczynnością tarczycy z współistniejącym jej zapaleniem, moczówką prostą oraz umiarkowanego stopnia hiperprolaktynemią. W obrazowaniu za pomocą rezonansu magnetycznego charakteryzuje się występowaniem intensywnie wysycających się po podaniu środka kontrastowego (Gd-DTPA) obszarów obejmujących podwzgórze lub symetrycznie powiększoną przysadkę. Leczenie limfocytarnego zapalenia podwzgorza i przysadki polega na wyrównaniu niedoborów hormonalnych, a w przypadku nasilenia objawów neurologicznych zastosowaniu kortykosterydów, które prowadzą do poprawy klinicznej i cofania się zmian naciekowych okolicy podwzgorza i przysadki.

## Diagnosis and Treatment of the lymphocytic hypothalamitis and hypophysitis

Zgliczyński W., Zdunowski P.

Department of Endocrinology, Medal Center of Postgraduate Education, Warsaw, Poland

► Lymphocytic hypophysitis is a rare, infiltrative disease of autoimmunological etiology, causing pituitary damage. Until recently, diagnosis was established based on histopathological data (usually during autopsy). Incorporation of Magnetic Resonance Imaging (MRI) into diagnostic process of hypothalamo-pituitary diseases enabled to reveal inflammatory changes of pituitary and also affecting pituitary stalk and hypothalamus. The aim of this work was to establish diagnostic and therapeutic criteria of lymphocytic hypothalamitis and hypophysitis. Material consists of 10 patients ? 9 women and one man, aged 25 to 54 yrs (mean 39.3) followed up during period 2 to 7 yrs (mean 4.5). Results: It was shown that

lymphocytic hypothalamitis and hypophysitis affects in most cases females and could be related to pregnancy and after-delivery period. Lymphocytic infiltration of hypothalamus and pituitary often coincide with other autoimmune diseases. Most often clinical signs and symptoms comprise secondary insufficiency of adrenals and gonads, hypothyreosis with thyroiditis, diabetes insipidus and mild hyperprolactinaemia. Imaging with magnetic resonance shows foci within hypothalamus or symmetrically enlarged pituitary with strong enhancement after (GdDTPA) administration. Therapy of lymphocytic hypothalamitis and hypophysitis basis on hormonal replacement therapy. In cases with progression of neurological symptoms administration of corticosteroids led to clinical improvement and regression of infiltrative changes of hypothalamus and pituitary.

## Polimorfizm A(-308)G genu TNF i A(49)G genu CTLA-4 w chorobie Hashimoto

Stęchły T.<sup>1</sup>, Kula D., Steinhof K.<sup>2</sup>, Jurecka-Lubieniecka B.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Zakład Medycyny Nuklearnej i Endokrynologii Onkologicznej, Centrum Onkologii – Instytut, Oddział w Gliwicach, Polska  
<sup>2</sup> Zakład Radiodiagnostyki, Centrum Onkologii – Instytut, Oddział w Gliwicach, Polska

► Predyspozycja genetyczna odgrywa obok czynników środowiskowych i hormonalnych istotną rolę w rozwoju choroby Hashimoto (HT). Wśród genów wykazujących związek z chorobą wymienia się między innymi geny CTLA-4 i TNF. Gen CTLA-4 (antygen cytotoksyczności limfocytów T-4) jest zlokalizowany w chromosomie 2q 33. Część cząsteczka CTLA-4 pełni funkcję koreceptora podczas prezentacji antygeny przez limfocyty, łącząc się z cząsteczką B7 na powierzchni komórki prezentującej antygen, co skutkuje hamowaniem aktywacji limfocytów T. Słabsza ekspresja lub funkcja białka CTLA-4 wiąże się ze słabszym hamowaniem reakcji autoimmunologicznych. Cytokina TNF (czynnik martwicy nowotworów) kodowana jest przez geny położone na chromosomie 6 wśród genów klasy IV układu HLA, a jej wpływ na procesy immunologiczne jest różnorodny.

Celem pracy była ocena związku polimorfizmu jednonukleotydu (SNP) genów CTLA-4 w pozycji 49 w eksonie 1 (zamiana A/G) oraz TNF w promotorze w pozycji – 308 (zamiana A/G) z chorobą Hashimoto, jej postaciami i niektórymi jej cechami klinicznymi. Do badań zakwalifikowano 126 chorych z chorobą Hashimoto. Grupę kontrolną (K) stanowiło 110 osób zdrowych dobranych odpowiednio według płci i wieku do grupy osób chorych, u których i w rodzinach których nie stwierdzono choroby tarczycy ani choroby autoimmunologicznej.

Badania genetyczne przeprowadzono techniką PCR/RFLP używając enzymów restrykcyjnych BbvI and NcoI. Częstość poszczególnych genotypów dla obu genów w grupie HT i K nie różniły się istotnie. Natomiast częstość występowania poszczególnych genotypów CTLA-4 A(49)G różniła się istotnie dla zanikowej i klasycznej postaci choroby Hashimoto oraz grupy kontrolnej (p=0,036). Częstości genotypów wynosiły odpowiednio: homozygota GG – 39,2% do 17,8% do 16,4%, heterozygota AG – 27,5% do 30,1% do 40,0% i homozygota AA

– 33,3% do 52,1% do 43,6%. Szczególnie znamieną była różnica pomiędzy postacią zanikową HT i K ( $p=0,006$ ). Spośród cech klinicznych HT związek z polimorfizmem genu CTLA-4 wykazują oba parametry oceniające nasilenie niedoczynności tarczycy tj. stężenie TSH przed leczeniem ( $p=0,026$ ) oraz dawka substytucyjna tyroksyny wymagana do osiągnięcia eutyreozy ( $p=0,0006$ ). Nie stwierdzono istotnych różnic dla polimorfizmu genu TNF A9-308)G dla postaci i cech klinicznych HT. Wykazano istotną zależność między stężeniami aTPO ( $p=0,005$ ) i TSH początkowego w surowicy ( $p=0,035$ ) a objętością tarczycy. Mediany wartości stężenia aTPO w surowicy rosły wraz ze wzrostem objętości tarczycy. U 44 probandów (wszyscy z zanikową postacią HT) stwierdzono w rodzinie inne choroby autoimmunologiczne (z wyłączeniem AITD). Zbadano związek tej cechy z polimorfizmem genów CTLA-4 i TNF w porównaniu do pozostałych probandów. Dla CTLA-4 stwierdzono silnie znamieny związek ( $p=0,002$ ): obecność homozygoty rzadkiej (G/G) genu CTLA-4 u probanda z występowaniem chorób autoimmunologicznych w rodzinie spotykano w 45,5% wobec 15,9% w grupie probandów bez autoimmunizacji w rodzinie. Dla genu YNF znamienego związku z autoimmunizacją w rodzinie nie stwierdzono.

Uzyskane wyniki pozwoliły na sformułowanie następujących wniosków:

1. Gen CTLA-4 uczestniczy w predyspozycji genetycznej do choroby Hashimoto, ponieważ :
  - zaobserwowano istotny statystycznie związek między występowaniem polimorfizmu A(49)G genu CTLA-4 w chromosomie 2q33 w pierwszym eksonie a występowaniem zanikowej postaci choroby Hashimoto;
  - wykazano związek pomiędzy polimorfizmem CTLA-4 a nasileniem niedoczynności tarczycy, określonym przez ostateczną dawkę substytucyjną tyroksyny i stężenie TSH w surowicy przed leczeniem;
  - wykonana metaanaliza potwierdza na dużej grupie związek tego genu z predyspozycją do wystąpienia choroby Hashimoto.
2. Zanikowa postać choroby Hashimoto ma nieco inną predyspozycję genetyczną niż postać klasyczna, co przejawia się związkiem z występowaniem w rodzinie chorego innych chorób autoimmunologicznych, oraz związkiem z polimorfizmem genu CTLA-4.
3. Obserwowany w pracy związek pomiędzy polimorfizmem A(49)G genu CTLA-4 a występowaniem chorób autoimmunologicznych w rodzinie chorych z chorobą Hashimoto wynika najpewniej z udziału tego genu w predyspozycji do różnych chorób autoimmunizacyjnych.
4. Wykonane badania nie potwierdzają związku między polimorfizmem restrykcyjnym (-308) NcoI genu TNF a występowaniem i objawami klinicznymi choroby Hashimoto.

**Słowa kluczowe:** choroba Hashimoto, predyspozycja genetyczna, polimorfizm genów, CTLA-4, TNF.

## TNF and CTLA-4 genes in Hashimoto disease

Stęchły T.<sup>1</sup>, Kula D., Steinhof K.<sup>2</sup>, Jurecka-Lubieniecka B.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Nuclear Medicine and Endocrine Oncology, Maria Skłodowska-Curie Memorial Institute, Gliwice Branch, Poland

<sup>2</sup> Department of Radiodiagnostic, Maria Skłodowska-Curie Memorial Institute, Gliwice Branch, Poland

► Genetic predisposition, together with environmental and hormonal factors, is important in development of Hashimoto's thyroiditis (HT). Among genes that exhibit correlation with disease we can distinguish CTLA-4 and TNF genes, which protein products affects the course of immune reactions. CTLA-4 is located on chromosome 2q33, and is a co-receptor during antigen presentation by T lymphocyte. It effects by binding with B7 molecule on the surface of antigen presenting cell, what decrease T lymphocyte activation. Lower expression or function of CTLA-4 protein corresponds with weaker down-regulation of autoimmune reactions. TNF (tumor necrosis factor) cytokine is coded by genes placed on chromosome 6 within the cluster of genes of HLA system class IV, and its influence on immune processes is varying.

The aim of the study was to evaluate relationship between A/G SNP (single nucleotide polymorphism) at position 49 in exon 1 of the CTLA-4 gene and its position -308 in promoter of the TNF gene and Hashimoto's thyroiditis, its forms and some clinical features. The study was performed in 126 patients with Hashimoto's thyroiditis and 110 healthy controls, adjusted by sex and age to HT group, with no evidence or familial history of thyroid disease and autoimmune disease. All subjects were Caucasians from Poland.

Genotyping was carried out by polymerase chain reaction – restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) using the restriction enzymes BbvI and NcoI.

There was no significant difference for the genotype distribution among the subjects with HT and control subjects, both for CTLA-4 and TNF genes. There was the significant difference ( $p=0,018$ ) for CTLA-4 gene between subgroups with atrophic thyroiditis (AT) and classic HT compared to controls. The distribution of genotypes for the forms of HT and controls was : for homozygotes GG – 39.2% to 17.8% to 16.4%; for heterozygotes AG – 27.5% to 30.1% to 40.0%; for homozygotes AA – 33.3% to 52.1% to 43.6% adequately. The difference between AT subgroup and healthy controls was especially significant ( $p=0,006$ ). There was also significant association among the clinical parameters of HT, TSH concentration in serum before treatment ( $p=0,026$ ) and substitution thyroxine dose ( $p=0,0006$ ), and CTLA-4 gene polymorphism. For the polymorphism of TNF gene there was no significant association between the genotype distribution neither among the subgroups nor between clinical parameters of HT. There was significant relationship between TPOAb concentration ( $p=0,005$ ), initial TSH concentration in serum ( $p=0,035$ ) and thyroid volume. Median of TPOAb concentration was increasing along with thyroid volume. Median TSH concentration was highest for the goitrous form of HT and lowest for HT with normal volume of thyroid. In 44 proband's families there were found other autoimmune diseases (excluding AITD). All of them belonged to the group with atrophic HT form. The association of this trait with CTLA-4 and TNF genes

polymorphism was analyzed in comparison to the group of remaining probands. For the CTLA-4 gene significant association ( $p=0.002$ ) was observed: rare homozygote (G/G) at probands with autoimmunity in family was more frequent than in remaining probands (45.5% vs. 15.9%). For TNF gene there wasn't found significant association.

Obtained results allowed to formulate following conclusions:

1. CTLA-4 gene participates in genetic predisposition for Hashimoto's thyroiditis:
  - there was observed significant association between occurrence of A(49)G polymorphism in CTLA-4 gene in 2q33 chromosome in first exon and occurrence of atrophic form of HT;
  - there was significant relationship between CTLA-4 polymorphism and escalation of hypothyroidism, determined by final substitution thyroxine dose and TSH serum concentration before treatment;
  - metaanalysis performed on the large group confirms this gene association with predisposition for occurrence of Hashimoto's thyroiditis.
2. Atrophic form of HT has a slightly different genetic background from classical one, what manifests itself by association with incidence of other autoimmune diseases in patient's family, and association with polymorphism of CTLA-4 gene.
3. Observed association between occurrence of CTLA-4 gene A(49)G polymorphism and occurrence of autoimmune diseases in patient's families is caused probably by participation of this gene in predisposition for various autoimmune diseases.
4. Performed analysis did not confirm the association between A(-308)G TNF gene NcoI restriction polymorphism and occurrence of Hashimoto's thyroiditis and its clinical symptoms.

**Key words:** Hashimoto's thyroiditis, genetic predisposition, CTLA-4, TNF, polymorphism.

## Funkcja mostków dwusiarczkowych w receptorze TSH w wiązaniu autoprzeciwciał

Adler G., Piotrowska U.

Zakład Biochemii Klinicznej, Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, Warszawa, Polska

► W N-końcowej części receptora TSH występują epitopy rozpoznawane przez autoprzeciwciała chorych. Cechą charakterystyczną tego fragmentu cząsteczki receptora jest obecność czterech reszt cysteinowych. Proponowano, że epitop rozpoznawany przez autoprzeciwciała obejmuje wiązanie S-S pomiędzy resztami cystein w pozycjach 29 i 41. Obecna praca miała na celu zbadanie tej możliwości.

Stosowaliśmy dwa syntetyczne peptydy: jeden, Nr 19+12, zawierający powyższe, potencjalnie aktywne wiązanie dwusiarczkowe i drugi, Nr 20, imitujący sekwencję powstałą w wyniku wytworzenia takiego wiązania. Peptydy te oraz peptyd kontrolny po sprzęgnięciu z nośnikiem białkowym zostały użyte do immunizacji królików. Króliki immunizowane peptydami Nr 19+12 oraz 20 wytworzyły przeciwciała rozpoznające w teście ELISA receptor TSH z transfekowanych komórek owadzych. Aby stwierdzić, czy antyreceptorowe

przeciwciała królicze imitowały aktywność autoprzeciwciał zbadaliśmy ich wpływ na wiązanie TSH z receptorem w teście TRAK oraz ich wpływ na aktywność cyklazy adenylanowej w wytwarzających receptor TSH komórkach jajowych chomika.

Stwierdziliśmy, że żadna z surowic immunizowanych królików nie hamowała wiązania TSH do receptora w teście TRAK. Żadna surowica nie blokowała też aktywacji cyklazy adenylanowej przez TSH. W przeciwieństwie do tych wyników, w teście stymulacji cyklazy adenylanowej surowica jednego z 6 immunizowanych królików wykazywała słabą, lecz znamioną statystycznie aktywność.

Otrzymane wyniki wykazały, że peptyd zawierający mostek dwusiarczkowy łączący cysteiny 29-41 może spowodować powstanie przeciwciała stymulującego cyklazę adenylanową. Peptyd ten obejmuje więc epitop dla przeciwciał stymulujących. Fakt, że odpowiedź, choć słabą, uzyskano tylko u jednego z królików można wytłumaczyć tym, że odpowiedź immunologiczna każdego zwierzęcia jest inna. Natomiast brak aktywności w teście TRAK surowicy stymulującej cyklazę adenylanową w teście biologicznym prawdopodobnie wynika z różnic czułości obu testów.

## The function of disulphide bond in thyrotropine receptor in the reaction with autoantibodies

Adler G., Piotrowska U.

Department of Biochemistry, Medical Center of Postgraduate Education, Warsaw, Poland

► The N-terminal fragment of thyrotropin receptor (RTSH) contains the epitopes recognized by patients autoantibodies. The characteristic feature of this fragment is the presence of four cysteine residues. It was proposed that TSHR stimulating autoantibodies reacted with the epitope containing S-S bridge between cysteines 29 and 41. The present work was done to study this possibility.

Three synthetic peptides: No 19+12 containing the above, potentially active disulphide bond, No 20 which imitate the sequence resulting from such bonding and the control, TSHR unrelated peptide were used for immunization. Rabbits immunized with peptides 19+12 and 20 produced antibodies reactive with TSHR from transfected insect cells. To check the autoantibodies imitating activity we studied the influence of rabbit sera on TSH-receptor binding in TRAK test and their influence on adenylate cyclase and TSH stimulated adenylate cyclase in hamster ovary cells expressing TSHR.

None of rabbits serum did decreased TSH binding in TRAK assay, neither decreased the stimulation of adenylate cyclase by TSH. In contrast, the serum of one from 6 immunized rabbits slightly, but significantly stimulated adenylate cyclase.

The results shown that immunization with the peptide containing S-S bridge between cysteine residues 20 and 41 can result in the synthesis of the adenylate stimulating antibody, indicating that this peptide contains the active epitope. The different immune reaction in each animal can explain the observation, that only one of rabbits responded to immunization by production of stimulating antibodies. Lack of the reaction in TRAK test of the adenylate cyclase positive serum probably results from the differences in sensitivity of both tests.



## Autoimmunologiczna choroba tarczycy u 16-letniego chłopca jako skutek allogenicznego przeszczepu szpiku

Beń-Skowronek I.<sup>1</sup>, Jaklińska T., Szewczyk L., Drabko K.<sup>2</sup>, Kowalczyk J.

<sup>1</sup> Klinika Endokrynologii i Neurologii Dziecięcej, Akademia Medyczna, Lublin, Polska

<sup>2</sup> Klinika Hematologii Dziecięcej, Akademia Medyczna, Lublin, Polska

► **Wstęp:** W związku ze stosowaniem allogenicznych przeszczepów szpiku jako skutecznej metody w leczeniu schorzeń hematologicznych i onkologicznych pojawił się problem przenoszenia tą drogą limfocytów zdolnych wywołać w organizmie biorcy reakcje autoimmunologiczne.

**Cel:** Przedstawienie patogeny autoimmunologicznej choroby tarczycy rozwijającej się u biorcy po przeszczepie szpiku od dawcy z wylezoną nadczynnością tarczycy Graves-Basedowa.

**Opis przypadku:** Chłopiec D.M., lat 14, zgłosił się do Kliniki Endokrynologii i Neurologii Dziecięcej AM w Lublinie z powodu nadczynności tarczycy (hist. chor. 9228/561/02). Do 14 roku życia rozwijał się prawidłowo. W wieku 14 lat wystąpiła u niego anemia aplastyczna z nieustalonych przyczyn. Z tego powodu został zakwalifikowany do allogenicznego przeszczepu szpiku. Dawcą szpiku była siostra pacjenta operowana 5 lat wcześniej z powodu nadczynności tarczycy w przebiegu choroby Gravesa-Basedowa. Dawca i biorca mieli zgodne antygeny HLA, w tym antygeny charakterystyczne dla choroby Gravesa-Basedowa. U chłopca systematycznie badano subpopulacje limfocytów, chimerizm limfocytów krwi obwodowej oraz poziom przeciwciał przeciw-tarczycowych.

W 2 lata po przeszczepie szpiku, po zakończeniu leczenia immunosupresyjnego, u pacjenta wystąpiły objawy nadczynności tarczycy: tachykardia, męczliwość, potliwość, drażliwość, utrata masy ciała. Rozwinęło się wole II stopnia. W badaniach laboratoryjnych stwierdzono obniżony poziom TSH 0,06 uIU/ml, podwyższony poziom tT3 5,13 ng/dl i fT4 5,62 ng/dl, oraz podwyższone poziomy przeciwciał przeciw-tarczycowych aTPO 412 IU/l, aTG 220 IU/l i aTR 16 IU/l. Gruczoł tarczycowy w badaniu ultrasonograficznym był powiększony, bez zmian ogniskowych o niejednorodnej echogeniczności. Całość badań wskazywała na autoimmunologiczne zapalenie tarczycy o charakterze choroby Graves-Basedowa. Ponieważ kontrolowane w trakcie badań limfocyty we krwi obwodowej w ok. 56% pochodzą od dawcy (w tym wypadku mają karyotyp 46XX), a ich odsetek stopniowo wzrastał w trakcie leczenia zachowawczego tyreotoksykozy możemy mówić o wywołaniu choroby Graves-Basedowa przez kompetentne immunologicznie limfocyty przeniesione od dawcy w trakcie allogenicznego przeszczepu szpiku. Na podstawie badań immunologicznych wykluczono reakcję przeszczep przeciw gospodarzowi.

**Wniosek:** W trakcie przeszczepu szpiku kostnego od dawcy z chorobą autoimmunologiczną tarczycy możliwe jest przeniesienie komórek zdolnych do wywołania reakcji autoimmunologicznej w tarczycy biorcy.

## Transfer of aird following allogeneic bone marrow transplantation

Beń-Skowronek I.<sup>1</sup>, Jaklińska T., Szewczyk L., Drabko K.<sup>2</sup>, Kowalczyk J.

<sup>1</sup> Department of Pediatric Endocrinology and Neurology, Medical Academy, Lublin, Poland

<sup>2</sup> Department of Pediatric Oncology and Hematology, Medical Academy, Lublin, Poland

► **Introduction:** In connection to usage of allogeneic bone marrow transplantation (BMT) there rise the problem of transfer of lymphocytes capable of induction autoimmunological reactions in recipient.

**The aim of our study** is a presentation of pathogenesis of autoimmunological thyroid disease in a recipient following BMT from donor with Graves` disease after total surgical treatment.

**Case report:** The 16-year-old boy was received to Department of Pediatric Endocrinology and Neurology because of thyrotoxicosis. To 14<sup>th</sup> year of life he developed normally. In this year he was diagnosed with aplastic anemia and was treated with allogeneic BMT from his HLA fully compatible healthy sister. The sister was operated 2 years earlier because of Graves` disease. After BMT lymphocyte subsets, complete chimerism and levels of thyroid autoantibodies in peripheral blood were systematically investigated in the boy. The T4/T8 ratio was increased during this period. The percentage of donors lymphocyte (with karyotype 46XX) was increased (to 56%). Two years after BMT, 1 year after immunosuppressive treatment in the patient there occurred signs of thyrotoxicosis: tachycardia, fatigue, sweating, irritability, body weight loss, goiter stage II. There were observed: a decrease of TSH (0.06 uIU/ml) and increase of tT3 (5.13 ng/dl) and free T4 5.62 ng/dl. High levels of thyroglobulin Ab (aTG 220 IU/l) and thyroperoxidase (aTPO Ab 412 IU/l) and antibody against TSH (aTR 16 IU/l) were detected. The thyroid gland in ultrasound was unhomogenous and enlarged. Graves` disease was diagnosed. Following the immunological investigations the GvHD reaction was excluded.

**Conclusions:** Following allogeneic BMT the donor-derived immunity can be transferred to a recipient and causes the Graves` disease.

## Choroby z autoimmunizacji u krewnych dzieci chorych na cukrzycę typu 1

Beń-Skowronek I.<sup>1</sup>, Wójtowicz M.<sup>2</sup>, Mardarowicz K., Wojtkowska A., Pietroń-Grzyb M., Budzyńska J., Piekarski R.<sup>1</sup>, Szewczyk L.

<sup>1</sup> Klinika Endokrynologii i Neurologii, Akademia Medyczna, Lublin, Polska

<sup>2</sup> Studenckie Koło Naukowe przy Klinice Endokrynologii i Neurologii, Akademia Medyczna, Lublin

**Cel pracy:** Ocena częstości występowania chorób autoimmunologicznych u krewnych I i II stopnia dzieci chorych na cukrzycę typu 1

**Materiał i metody:** Badania ankietowe przeprowadzono wśród rodziców dzieci chorych na cukrzycę typu 1. Do badań zakwalifikowano 90 rodzin pacjentów leczonych w Klinice Endokrynologii i Neurologii oraz w Poradni Endokrynologicznej i Diabetologii Dziecięcej AM w Lublinie. Uzyskane dane porównano z danymi dla populacji ogólnej opublikowanymi w piśmiennictwie.

**Wyniki:** Przeprowadzone badanie ankietowe ujawniło, że u 16,7% krewnych dzieci choruje na cukrzycę typu 1, 33,4% na cukrzycę typu 2, kolagenozy występowały u 15,5% krewnych, u 4,4% zapalenie tarczycy typu Hashimoto, colitis ulcerosa u 2,2%. Wśród krewnych z chorobami autoimmunologicznymi 16,7% to rodzice, 16,7% to rodzeństwo dzieci, dziadkowie stanowią 36,7% a dalsza rodzina 25,5%. Spośród dzieci chorych na cukrzycę tylko 35,5% nie miało w wywiadzie rodzinnym żadnego krewnego ze schorzeniem autoimmunologicznym, 36,6% dzieci 1 członek rodziny choruje na chorobę tego typu, a w przypadku 27,7% dzieci dwoje i więcej krewnych. Częstość występowania chorób z autoimmunizacji jest większa niż w rodzinach dzieci bez cukrzycy.

#### Wnioski:

1. Występowanie chorób autoimmunologicznych u rodziców, rodzeństwa i krewnych dzieci z cukrzycą typu 1 jest częstsze niż w populacji ogólnej.
2. Wskazane byłoby objęcie opieką rodzeństwa dzieci chorych na cukrzycę typu 1 w celu wczesnego wykrywania schorzeń autoimmunologicznych.

## The autoimmune diseases in relatives of children with diabetes type 1

Beń-Skowronek I.<sup>1</sup>, Wójtowicz M.<sup>2</sup>, Mardarowicz K., Wojtkowska A., Pietron-Grzyb M., Budzyńska J., Piekarski R.<sup>1</sup>, Szewczyk L.

<sup>1</sup> Department of Pediatric Endocrinology and Neurology, AM, Lublin, Poland

<sup>2</sup> Students Scientific Association in Department of Pediatric Endocrinology and Neurology, AM, Lublin, Poland

► **The aim of study:** Was to investigate of autoimmune diseases frequency in relatives of children with diabetes type 1.

**Materials and methods:** The inquiry investigations were conducted in families of 90 children with diabetes type 1. The patients were treated in Department of Pediatric Endocrinology and Neurology and in outpatient clinic our department. The results were compared to statistic data in total population.

**Results:** The inquiry examinations revealed, that relatives of patients were affected with a diabetes type 1 in 16.7%. with diabetes type 2 in 34.4%. a collagenoses were occurred in 15.5%. thyroiditis Hashimoto in 4.4%. and colitis ulcerosa in 2.2% relatives. Among the relatives with autoimmune diseases 16.7% were parents. 16.7% - siblings. 36.7% - grandparents. 25.5% other relatives. Only 35.5% of the diabetic children haven't in familial anamnesis no relatives with autoimmune disease. 36.6% of patients have one relative. 27.7% children with diabetes type 1 have two or more relatives with autoimmune diseases. The frequency of autoimmune diseases in families of children with diabetes was greater as in families of healthy children.

#### Conclusions:

1. The prevalence of autoimmune diseases in parents, siblings and relatives of children with diabetes type 1 is greater as in families of healthy children.
2. It is indicate a prophylactic care of siblings of diabetes type 1 children in view of early diagnose of autoimmune diseases.

## Autoimmunizacja a wynik leczenia ablacyjnego wola guzowatego olbrzymiego z użyciem <sup>131</sup>I

Gryczyńska M., Bączyk M., Pisarek M., Ziemińska K., Gut P., Sowiński J.

Katedra i Klinika Endokrynologii, Przemiany Materii i Chorób Wewnętrznych Akademii Medycznej im. K.Marcinkowskiego w Poznaniu

► Celem pracy była ocena autoprzeciwciał przeciwtarczycowych u chorych z wolem olbrzymim leczonych powtarzanymi dawkami izotopu jodu <sup>131</sup>I, przed oraz w trakcie prowadzonej terapii. Do leczenia zakwalifikowano chore, które zdyskwalifikowane z leczenia operacyjnego z powodu zbyt wysokiego ryzyka, oraz te, które nie wyraziły zgody na proponowane leczenie zabiegowe. Badaniami objęto 24 kobiety w wieku od 62 do 82 lat, u których stwierdzono obecność wola guzowatego olbrzymiego (klinicznie co najmniej w stopniu II wg WHO i objętości przekraczającej 100 ml, określanej na podstawie badania ultrasonograficznego). U wszystkich badanych oznaczano poziom hormonu tyreotropowego (TSH), wolnej tyroksyny (FT4), poziom przeciwciał przeciwtarczycowych (aTPO, aTg, aTSHR-TRAK), wykonano test jodochwytności po 5 i 24h, scyntygram tarczycy izotopem <sup>131</sup>I oraz biopsję aspiracyjną cienkoigłową zmian guzowatych celem wykluczenia złośliwego procesu nowotworowego. Przy kwalifikacji do leczenia u 18 chorych stwierdzono nadczynność tarczycy a u 6 eutyreozę. Badania oraz leczenie izotopowe 30 mCi <sup>131</sup>I powtarzano co 3 miesiące. Średnia objętość tarczycy przy rozpoczęciu terapii wynosiła 163 ml (od 100 do 370 ml – mediana 145 ml) i w trakcie leczenia ulegała stopniowemu zmniejszeniu: po 6 miesiącach do 123 ml (od 56 do 240 ml – mediana 109 ml), a po 12 miesiącach do 115 ml (od 63 do 213 ml – mediana 95 ml). Poziom przeciwciał aTPO i aTg wykazywał wyraźną tendencję wzrostową, przy istotnych różnicach i wahaniach u poszczególnych chorych, (mediany: aTPO od 30 IU/ml (0-336) do 58 IU/ml (15-1728); aTg od 31 IU/ml (7-2000) do 44 IU/ml (10-1184).

W czasie obserwacji nie stwierdzono jednoznacznej zależności pomiędzy poziomami przeciwciał tarczycowych, wartościami testu jodochwytności i stwierdzaną redukcją wielkości wola.

## Autoimmunization and results of <sup>131</sup>I ablative therapy in large nodular goiter

Gryczyńska M., Bączyk M., Pisarek M., Ziemińska K., Gut P., Sowiński J.

Department of Endocrinology, Metabolism and Internal Diseases, University of Medical Sciences, Poznań

► The aim of the study was evaluation of antithyroid autoantibodies in patients with large goiter treated with repeated doses of  $^{131}\text{I}$ , before and after therapy.

Therapy was undertaken in female patients disqualified from surgery due to high risk and these patients who didn't agree to surgery. Studies were performed in 24 women (age range: 62-82 yrs) with large goiters (2<sup>nd</sup> degree according to WHO classification and goiter volume assessed by USG over 100 ml).

Serum TSH, FT4, antithyroid antibodies (aTPO, aTg, aTSHR-Ab) levels were estimated in all patients parallel with radioiodine uptake test (after 5 and 24 hours),  $^{131}\text{I}$  thyroid scintigraphy and fine needle biopsy to exclude neoplastic transformation.

During classification to the therapy in 18 patients hyperthyroidism and in 6 patients normal thyroid function were diagnosed. These studies and therapy with 30 mCi  $^{131}\text{I}$  were repeated every 3 months.

Before therapy mean thyroid volume was approximately 163 ml (range: 100-370 ml; median 145 ml) and during therapy gradually decreased to 123 ml (range: 56-240 ml; median 109 ml) after 6 months and to 115 ml (range: 63-213 ml; median 95 ml) after 12 months.

ATPO and aTg antibodies levels showed marked tendency to rise, with significant differences and fluctuations in particular patients (aTPO - median: 30 IU/ml to 58 IU/ml; aTg - median: 31 IU/ml to 44 IU/ml).

During these observations we didn't find evident correlation between the levels of antithyroid antibodies, radioiodine uptake and proved reduction of goiter volume.

## Występowanie autoprzeciwciał przysadkowych w chorobie Gravesa-Basedowa

Gut P., Kosowicz J., Ziernicka K., Bączyk M., Gryczyńska M., Pisarek M., Czarnywojtek A., Sowiński J.

Katedra i Klinika Endokrynologii, Przemiany Materii i Chorób Wewnętrznych Akademii Medycznej im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu

► **Wstęp:** Dotychczasowe badania oparte na metodzie immunofluorescencyjnej wykazały, że autoprzeciwciała przysadkowe są obecne w surowicach większości chorych z chorobami przysadki, jak również u chorych z chorobami autoimmunizacyjnymi gruczołów dokrewnych jak choroba Gravesa-Basedowa czy choroba Addisona. Nowsze badania oparte na metodzie western-blottingu dowiodły, że w surowicach pacjentów z różnymi chorobami autoimmunizacyjnymi gruczołów dokrewnych obecne są przeciwciała skierowane przeciwko białkom antygenowym przysadek o różnych ciężarach cząsteczkowych. Stąd celem niniejszej pracy było badanie występowania autoprzeciwciał przeciw frakcji mikrosomalnej ludzkich przysadek u chorych na chorobę Gravesa-Basedowa.

**Materiał:** Do badań włączono surowice 32 chorych na chorobę Gravesa-Basedowa. Wśród chorych było 25 kobiet w wieku od 31 do 67 lat (średnio  $49,9 \pm 9,4$ ) oraz 7 mężczyzn w wieku od 41 do 58 lat (średnio  $51 \pm 7,1$ ). Wszyscy chorzy mieli typowe objawy kliniczne nadczynności tarczycy potwierdzone badaniami labora-

toryjnymi (TSH, FT3, FT4) oraz potwierdzoną obecność w surowicy krwi przeciwciał przeciw receptorowi dla TSH. Surowice kontrolne pochodziły od 10 osób zdrowych wśród których znajdowało się 7 kobiet oraz 3 mężczyzn w wieku od 21 do 45 lat (średnio  $30,6 \pm 7,1$ ).

**Metodyka:** Do oceny autoprzeciwciał wykorzystano metodę rozdzielania elektroforetycznego w żelu poliakrylamidowym (SDS-PAGE) i western-blottingu (immunoblottingu). Frakcje mikrosomalne otrzymano z homogenatów tkankowych przysadek na drodze ultrawirowania i solubilizacji w 1% dezoksycholeń sodu.

**Wyniki:** Wśród 32 przebadanych chorych na chorobę Graves-Basedowa w 23 przypadkach stwierdzono obecność autoprzeciwciał przysadkowych. Surowice 16 chorych reagowały z białkiem frakcji mikrosomalnej przysadek o ciężarze właściwym 55 kDa. W pozostałych przypadkach 10 surowic reagowało z antygenem 67 kDa, 6 surowic z białkiem 60 kDa, 5 surowic z antygenem 52 kDa, 4 surowic z białkiem 105 kDa. Należy zwrócić uwagę, że 6 surowic reagowało z białkami 57 i 55 kDa oraz 5 surowic reagowało z białkami o ciężarach 55, 60 i 67 kDa.

**Wnioski:** W surowicach chorych na chorobę Gravesa-Basedowa stwierdza się bardzo często występowanie autoprzeciwciał przysadkowych skierowanych przeciwko autoantygenom frakcji mikrosomalnej ludzkich przysadek. Badania oceny w/w przeciwciał z zastosowaniem metody immunoblottingu wskazują, że w surowicach chorych na chorobę Gravesa-Basedowa najczęściej występują przeciwciała skierowane przeciwko autoantygenom przysadkowym o ciężarach właściwych 55, 60 i 67 kDa.

## The incidence of the pituitary autoantibodies in Graves' disease

Gut P., Kosowicz J., Ziernicka K., Bączyk M., Gryczyńska M., Pisarek M., Czarnywojtek A., Sowiński J.

Department of Endocrinology, Metabolism and Internal Diseases, University of Medical Sciences, Poznań, Poland

► **Introduction:** It's known that in the sera of Graves, Addison and other autoimmune endocrine diseases patients we can detect autoantibodies against pituitary antigens using immunoblotting methods. The aim of the study was evaluation of pituitary autoantibodies in Graves' disease patients.

**Material:** Studies were performed in 32 Graves' disease patients, 25 women (age range: 31-67 yrs, median:  $49,9 \pm 9,4$ ) and 7 male (age range: 41-58 yrs, median:  $51,0 \pm 7,1$ ). All patients were presenting hyperthyreosis symptoms according to laboratory tests (TSH, FT3, FT4) and were positive in TSH-R lab-test. Sera of control subjects were obtained from 10 healthy blood donors, 7 women, 3 male (age range 21-45 yrs, median:  $30,6 \pm 7,1$ )

**Methods:** Incidence of pituitary autoantibodies were estimated by polyacrylamide electrophoresis gel and western-blotting. Pituitary microsomes were obtained from human pituitary tissues by ultracentrifugation and solubilisation in 1% desoxycholic acid.

**Results:** In 23 sera from 32 were detected autoantibodies against pituitary microsomes. 16 sera were reacting with 55 kDa antigen, 10 sera with 67 kDa, 6 sera with 60 kDa, 5 sera with 52 kDa and 4 sera with 105 kDa. It is important to note that 6 sera were reacting with 57 and 55 kDa, and 5 sera with 55, 60 and 67 kDa.

**Conclusions:** in sera of Graves' disease patients frequently can be detected autoantibodies against pituitary microsomes antigens. The most frequent are antibodies against 55, 60 and 67 kDa.

## Autoprzeciwiała u nowo diagnozowanych dzieci z cukrzycą typu 1 – wpływ płci i wieku

Stankiewicz W., Fichna P., Korman E., Skowrońska B.

Klinika Endokrynologii i Diabetologii Wieków Rozwojowego, II Katedra Pediatrii, Akademia Medyczna im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

► Patogeneza cukrzycy typu 1 zależna jest od procesu autoimmunologicznej destrukcji a przeciwciała są markerami wskazującymi na przebieg tego procesu. Najczęściej oznaczane: przeciw insulinowe (IAA), przeciw dekarboksylazie kwasu glutaminowego (GAD65ab) oraz przeciw fosfatazie tyrozyny (ICA512) obecne są w odmienny sposób w różnych chorych.

**Celem** badań była ocena występowania IAA, GAD65ab i ICA512 u dzieci ze świeżo rozpoznaną cukrzycą typu 1, z uwzględnieniem płci i wieku chorych.

**Pacjenci i metody:** 131 dzieci (od 0 do 15 lat) z cukrzycą było podzielonych na podgrupy wg wieku (0-4, 5-9 i 10-15 lat) i płci. Surowice uzyskiwano w ciągu pierwszego tygodnia od ustalenia diagnozy. IAA były mierzone metodą RIP z I<sup>125</sup>-insuliną; uznawano je jako dodatnie, kiedy przewyższały 42 AU (jednostki arbitralne). GAD65ab były oznaczane metodą RIA (Cis bio-international) z użyciem rekombinowanego ludzkiego I<sup>125</sup>-GAD i uznawano je za pozytywne powyżej 1AU. Metoda RIP dla przeciwciał ICA512 stosowała wewnątrzkomórkową domenę ludzkiego antygeny znakowaną 35S-metioniną, a wyniki były pozytywne przy >7,0AU.

**Wyniki:** IAA były wykrywane jako jedyne w 10,3%, ale wspólnie z GAD65 i/lub ICA512 w 65,4% spośród badanych. Przeciwciała te dominowały u najmłodszych dzieci z cukrzycą typu 1: w wieku 0-4 lat 100% dodatnich przy 288±193AU, dla 5-9 lat 60% przy 618±731AU i dla 10-15 lat 41,8% dodatnich przy 1105 ±1455AU. GAD65ab ujawniały się u obu płci obok IAA i/lub ICA512 w 51,2% a pojedynczo u 7,6% chorych. Jednakże, częściej GAD65 obserwowano u dziewcząt, niż u chłopców: 73,8 vs. 43,9% (p<0,001). Podobnie było, gdy uwzględniano GAD65 jako jedyne przeciwciało: 13,8% vs. 1,5% (p<0,009). Także GAD65ab łącznie z ICA512 ujawniały się częściej u dziewcząt (23,1%), niż u chłopców (15,2%) (p<0,015) oraz raczej w starszych podgrupach (5-9 lat 8,9% i 10-15 lat 26,6%), niż u najmłodszych dzieci (p<0,023).

**Dyskusja i wnioski:** Są różnice w ujawnianiu się autoprzeciwciał mierzonych w czasie diagnozy cukrzycy typu 1 u dzieci. IAA (jako specyficzne dla cukrzycy) są szczególnie charakterystyczne dla dzieci najmłodszych podczas, gdy pojawianie się GAD65ab jest częściej

obserwowane u dzieci starszych i z większą preferencją dla dziewcząt, niż chłopców. ICA512 są przeciwciałami raczej występującymi wspólnie z innymi, niż pojedynczo. Uwzględnienie tej immunologicznej charakterystyki odpowiedzi humoralnej może okazać się przydatne dla wyjaśniania patogenezy cukrzycy typu 1 u dzieci.

## Autoantibodies in newly diagnosed type 1 diabetic children – gender and age influence

Stankiewicz W., Fichna P., Korman E., Skowrońska B.

Department of Pediatric Endocrinology and Diabetes, II Chair of Pediatrics, Karol Marcinkowski University of Medical Sciences Poznań

► The pathogenesis of type 1 diabetes depends on autoimmune destruction and autoantibodies are markers indicating that process is going on. The most frequently measured autoantibodies: anti-insulin (IAA), anti-glutamine acid decarboxylase (GAD65) and anti-tyrosine phosphatase (ICA512) manifest a case to case different pattern of appearance.

**Aim** of this study was to evaluate the prevalence of IAA, GAD65ab and ICA512 in newly diagnosed type 1 diabetic children in relation to their gender and age.

**Patients and methods:** 131 diabetic children (age range 0–15 years) were categorized according to age (0-4, 5-9, and 10-15 years old) and sex. Serum were obtained during the first week after diagnosis has been established. IAA were measured with radioimmunoprecipitation (RIP) method using I<sup>125</sup>-insulin and results were positive when exceeded 42 AU (arbitrary units). GAD65ab has been estimated with RIA (Cis bio-international), using human recombinant antigen (I<sup>125</sup>-GAD) and result was positive when over 1AU. RIP method for ICA512 has based on intracellular domain of labelled (S<sup>35</sup>-methionin) human antigen and results were positive at >7.0AU.

**Results:** IAA were detected alone in 10.3% but coexisted with GAD65 and/or ICA512 in 65.4% out of cases. This autoantibody dominated in the youngest children with type 1 diabetes: 0-4 years old were 100% positive at 288±193AU, 5-9 years in 60% positive at 618±731AU and 10-15 years 41.8% positive at 1105±1455AU. GAD65ab was manifested in both sexes coexisting with IAA and/or ICA512 in 51.2% and alone in 7.6% out of all cases. However, GAD65ab positive girls were more frequent than boys: 73.8 vs. 43.9% (p<.001) and similar effect was found when GAD65ab alone was taken into the consideration: 13.8 vs. 1.5% (p<.009). On the other hand, also GAD65ab + ICA512 were observed as positive in girls (23.1%) more frequently than in boys (15.2%) (p<.015) as well as in the older subgroups (5-9 yrs 8.9% and 10-15 yrs 26.6%) than in the youngest children (p<.023).

**Discussion and conclusions:** There are some differences in the autoantibodies' manifestation at diagnosis of type 1 diabetes in children. IAA (specific for diabetes only) are especially characteristic for the youngest children, when GAD65ab appearance is observed more frequently in older children with greater preference for girls than boys. ICA512 is rather concomitant then alone autoantibody. It may be useful to remember about such a characteristics of humoral manifestation at type 1 diabetes diagnosis in children to gain the explanation of its pathogenesis.